



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

<b>(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> :</b> <b>B01J 13/16, A61K 9/50, A23L 1/22</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Numéro de publication internationale: WO 95/21018</b> <b>(43) Date de publication internationale: 10 août 1995 (10.08.95)</b>
<b>(21) Numéro de la demande internationale:</b> PCT/FR95/00116 <b>(22) Date de dépôt international:</b> 1er février 1995 (01.02.95) <b>(30) Données relatives à la priorité:</b> 94/01146                      2 février 1994 (02.02.94)                      FR <b>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US):</b> CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 3, rue Michel-Ange, F-75794 Paris Cédex 16 (FR). <b>(72) Inventeurs; et</b> <b>(75) Inventeurs/Déposants (US seulement):</b> LEVY, Marie-Christine [FR/FR]; 18 ter, rue Houzeau-Muiron, F-51100 Reims (FR). ANDRY, Marie-Christine [FR/FR]; 221, avenue du Général-Leclerc, F-51530 Dizy (FR). <b>(74) Mandataires:</b> PORTAL, Gérard etc.; Cabinet Beau de Loménie, 158, rue de l'Université, F-75007 Paris (FR).		<b>(81) Etats désignés:</b> AM, AT, AU, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LT, LU, LV, MD, MG, MN, MW, MX, NL, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SI, SK, TJ, TT, UA, US, UZ, VN, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), brevet ARIPO (KE, MW, SD, SZ).  <b>Publiée</b> <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>
<b>(54) Title: MICROCAPSULES WITH WALLS MADE OF CROSS-LINKED PLANT POLYPHENOLS, AND COMPOSITIONS CONTAINING SAME</b>		
<b>(54) Titre: MICROCAPSULES A PAROI DE POLYPHENOLS VEGETAUX RETICULES ET COMPOSITIONS EN CONTENANT</b>		
<b>(57) Abstract</b>  <p>Cross-linked plant polyphenol-based microcapsules are disclosed. The microcapsules are prepared by the interfacial cross-linking of plant polyphenols, particularly flavonoids. When added to a composition such as a cosmetic, pharmaceutical, dietetic or food composition, said microcapsules prevent any deterioration of the composition, especially any change in the colour thereof, without affecting the activity of the plant polyphenols, particularly the flavonoids, especially the anti-radical and anti-oxidative activity thereof.</p>		
<b>(57) Abrégé</b>  <p>Des microcapsules à base de polyphénols végétaux réticulés sont décrites. Ces microcapsules sont obtenues par réticulation interfaciale de polyphénols végétaux, en particulier de flavonoïdes. Ces microcapsules, incorporées dans une composition, telle qu'une composition cosmétique, pharmaceutique, diététique ou alimentaire, permettent de prévenir toute altération, en particulier toute modification de la coloration de cette composition, tout en conservant l'activité des polyphénols végétaux, en particulier des flavonoïdes, notamment anti-radicalaire et/ou anti-oxydante.</p>		

### **UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	GB	Royaume-Uni	MR	Mauritanie
AU	Australie	GE	Géorgie	MW	Malawi
BB	Barbade	GN	Guinée	NE	Niger
BE	Belgique	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BF	Burkina Faso	HU	Hongrie	NO	Norvège
BG	Bulgarie	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BJ	Bénin	IT	Italie	PL	Pologne
BR	Brésil	JP	Japon	PT	Portugal
BY	Bélarus	KE	Kenya	RO	Roumanie
CA	Canada	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CF	République centrafricaine	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CG	Congo	KR	République de Corée	SE	Suède
CH	Suisse	KZ	Kazakhstan	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SK	Slovaquie
CM	Cameroun	LK	Sri Lanka	SN	Sénégal
CN	Chine	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CS	Tchécoslovaquie	LV	Lettonie	TG	Togo
CZ	République tchèque	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DE	Allemagne	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
DK	Danemark	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	US	Etats-Unis d'Amérique
FI	Finlande	MN	Mongolie	UZ	Ouzbékistan
FR	France			VN	Viet Nam
GA	Gabon				

Microcapsules à paroi de polyphénols végétaux réticulés et compositions en contenant

La présente invention concerne essentiellement l'application aux polyphénols végétaux de la réticulation interfaciale au moyen d'un agent réticulant  
5 pour former des microcapsules, les microcapsules ainsi réalisées, leurs procédés de fabrication ainsi que les compositions contenant les microcapsules ainsi obtenues telles que compositions cosmétiques, pharmaceutiques, alimentaires, diététiques.

Les polyphénols végétaux constituent un groupe important de substances naturelles dont les propriétés anti-radicalaires et anti-oxydantes sont bien connues  
10 (voir par exemple : "Polyphenolic Phenomena", A. SCALBERT, Editeur, INRA Editions, Paris, 1993). Ces composés, parmi lesquels notamment les flavonoïdes, tels que par exemple les oligomères procyanidoliques ou OPC, possèdent des propriétés biologiques intéressantes liées en particulier à leur activité anti-radicalaire. Par exemple, ils peuvent prévenir les effets nocifs des radicaux libres sur la peau et ainsi  
15 jouer un rôle de protection contre les radiations solaires, contre le vieillissement de la peau, un rôle anti-carcinogène. Ils peuvent aussi prévenir l'érythème et la couperose. En outre, ils possèdent des propriétés utilisables en thérapeutique, en particulier en dermatologie et pour applications sur les muqueuses, telles que des propriétés anti-inflammatoires, des propriétés vasculo-protectrices (traitement des ecchymoses, pétéchies, gingivorragies, épistaxis....), des propriétés anti-allergiques, anti-ulcéreuses, anti-bactériennes, anti-virales, anti-cancéreuses. Enfin, ajoutés à des  
20 aliments ou produits diététiques, ils peuvent tout à la fois assurer la conservation des préparations auxquels ils sont incorporés, par action anti-oxydante, et constituer un apport intéressant de substances anti-radicalaires, permettant la prévention des  
25 maladies dues aux radicaux libres, telles que le cancer.

Ils ont ainsi des applications notamment dans les domaines cosmétique, pharmaceutique, alimentaire et diététique. Toutefois, il n'est souvent pas possible de les incorporer à certaines préparations, telles que par exemple des préparations à usage cosmétique ou dermatologique, en raison de la coloration foncée que ces  
30 substances relativement instables communiquent aux dites préparations.

De même les dérivés anthocyaniques, substances polyphénoliques colorées appartenant également au groupe des flavonoïdes (F.J. Francis, Crit. Rev.

Food Sci. Nutri., 1989, 28, 273-314), présentent aussi une activité anti-radicalaire et sont doués de propriétés biologiques intéressantes, notamment sur la perméabilité et la résistance capillaire. Toutefois ils ne peuvent généralement pas être incorporées à certaines préparations telles que par exemple des préparations à usage cosmétique ou dermatologique en raison de leur fort pouvoir colorant.

Il est connu que l'on peut préparer des polymères de haut poids moléculaire par polycondensation interfaciale d'un diphénol synthétique, le bisphénol A, avec les chlorures de diacides ( W. M. Eareckson, J. Polymer Sci., 1959, 40, 399-406). Sur ce principe, S. Suzuki et al. (Chem. Pharm. Bull., 1968, 6, 1629-1631) ont obtenu des microcapsules en appliquant la réaction de polycondensation entre le bisphénol A et le chlorure de sébacoyl à une émulsion.

Toutefois, aucun document de la littérature antérieure ne décrit la préparation de microcapsules par réticulation interfaciale de polyphénols végétaux.

Dans le cadre de l'invention, il a été découvert de manière inattendue que si l'on réalisait une réticulation interfaciale de polyphénols végétaux, en particulier de flavonoïdes, au moyen d'un agent réticulant, de préférence un halogénure de diacide, en particulier un chlorure de diacide, on obtenait un produit, en particulier des microcapsules, particulièrement stable notamment en présence d'un milieu aqueux, tout en préservant l'activité initiale de ces polyphénols végétaux, en particulier une activité biologique, notamment anti-radicalaire, ce qui est particulièrement remarquable.

Ainsi, il a été observé de manière inattendue que l'acylation interfaciale de groupements phénoliques du polyphénol végétal forme des liaisons ester et donne des membranes de polyphénol réticulé, tout en laissant libres suffisamment de groupements phénoliques pour le maintien des propriétés des polyphénols végétaux, en particulier de leurs propriétés anti-radicalaires et anti-oxydantes.

Il a en outre été observé que ce produit, incorporé dans une composition, évite les risques d'instabilité de cette composition, notamment en ce qui concerne sa coloration, corrélatifs à la présence au sein de cette composition de polyphénols végétaux, en particulier de flavonoïdes, susceptibles de se dégrader.

Ainsi, la présente invention a principalement pour objet de résoudre le nouveau problème technique consistant en la fourniture d'une solution permettant de

préparer un produit à partir de polyphénols végétaux, en particulier de flavonoïdes, qui, incorporé à une composition, n'en altère pas la stabilité, en particulier la stabilité de coloration.

La présente invention a également pour but principal de fournir une  
5 solution permettant d'empêcher la diffusion de polyphénols végétaux, en particulier de flavonoïdes, notamment à l'état dissous, dans l'ensemble de la composition dans laquelle ils sont incorporés.

Ainsi, la présente invention permet de prévenir toute altération, en  
particulier toute modification de coloration au cours du temps d'une composition  
10 contenant des polyphénols végétaux, en particulier des flavonoïdes.

La présente invention a encore pour but principal de fournir une solution  
permettant de préparer un produit qui ne tache pas la peau à partir de polyphénols  
végétaux, en particulier de flavonoïdes et en particulier de dérivés anthocyaniques, en  
permettant ainsi leur incorporation dans des préparations cosmétiques ou  
15 pharmaceutiques destinées à être appliquées sur la peau ou les muqueuses.

La présente invention a encore pour but principal de résoudre le nouveau  
problème technique consistant en la fourniture d'une solution permettant de préparer  
un produit de bonne conservation, en particulier de couleur stable à partir de  
polyphénols végétaux, en particulier de flavonoïdes, en rendant ainsi possible la  
20 préparation de compositions à usage cosmétique ou pharmaceutique, en particulier  
dermatologique, alimentaire ou diététique.

La présente invention a encore pour but principal de résoudre le nouveau  
problème technique consistant en la fourniture d'une solution permettant de préparer  
une forme stable de polyphénols végétaux, en particulier de flavonoïdes, tout en  
25 préservant l'activité initiale spécifique de ces polyphénols végétaux, en particulier de  
ces flavonoïdes.

La présente invention a encore pour but principal de résoudre le nouveau  
problème technique consistant en la fourniture d'une solution permettant de préparer  
un produit stable, en particulier des microcapsules, à partir de polyphénols végétaux,  
30 en particulier de flavonoïdes, préservant l'activité initiale de ces polyphénols  
végétaux, en particulier de ces flavonoïdes, tout en permettant éventuellement  
l'encapsulation d'une ou plusieurs substances actives à l'état de solution, de

suspension ou d'émulsion, permettant ainsi d'accroître l'activité biologique de ce produit ou de ces microcapsules.

La présente invention a encore pour but de résoudre les nouveaux problèmes techniques énoncés ci-dessus avec l'utilisation de procédés de fabrication  
5 simples, utilisables à l'échelle industrielle, en particulier dans l'industrie cosmétique, pharmaceutique, alimentaire ou diététique. De préférence, cette solution doit permettre de préparer des microcapsules ayant une taille de particules réglable à volonté, en particulier dans une plage de dimension allant de moins d'un micromètre à plus d'un millimètre.

10 Ainsi, selon la présente invention, il a été découvert de manière parfaitement inattendue, que l'on pouvait obtenir des microcapsules en déclenchant une réaction de polycondensation entre un polyphénol végétal et un agent réticulant, de préférence un halogénure de diacide, en particulier un chlorure de diacide, à l'interface des phases d'une émulsion, en particulier de type "eau-dans-l'huile". Dans  
15 ce cas, on émulsionne tout d'abord la solution aqueuse du polyphénol végétal au sein d'une phase hydrophobe, puis on ajoute la solution d'agent réticulant à l'émulsion. On constate alors qu'il se forme à l'interface des gouttelettes aqueuses, par suite de l'établissement de liaisons ester entre l'agent réticulant et des fonctions phénol du polyphénol végétal, des membranes constituées de molécules réticulées du  
20 polyphénol végétal. Après réaction, ces membranes forment donc des microcapsules qui peuvent être facilement séparées du milieu réactionnel et soumises à des lavages qui éliminent le polyphénol végétal non lié à la membrane.

D'autre part, ces microcapsules sont suffisamment stables pour subir une lyophilisation sans aucune destruction de leur structure et reprennent une forme  
25 sphérique après réhydratation, ce qui constitue encore un avantage technique déterminant de l'invention.

Il a été également découvert que l'on pouvait obtenir des microcapsules en déclenchant la réaction de polycondensation au sein d'une émulsion de type "huile-dans-l'eau". Dans ce cas, on émulsionne une phase hydrophobe contenant un agent  
30 réticulant, de préférence un halogénure de diacide, en particulier un chlorure de diacide, au sein d'une phase aqueuse contenant le polyphénol végétal et utilisée comme phase dispersante. On laisse la réaction se développer à l'interface et on

maintient l'agitation pendant un temps convenable. On constate qu'il se forme une membrane autour des gouttelettes hydrophobes dispersées, donnant ainsi des microcapsules à contenu hydrophobe.

Ainsi, selon un premier aspect, la présente invention couvre des microcapsules caractérisées en ce qu'elles comprennent une paroi formée d'un ou plusieurs polyphénols végétaux réticulés, en particulier au moyen d'une réticulation interfaciale entre le ou les polyphénols végétaux et un agent réticulant, de préférence un halogénure de diacide, en particulier un chlorure de diacide.

Selon un mode de réalisation avantageux, ces microcapsules sont caractérisées en ce qu'elles comprennent une protéine ou un polysaccharide, ou un polyalkylèneglycol, ou un mélange quelconque de ces substances. Avantageusement, la paroi des microcapsules peut également comprendre une protéine et/ou un polysaccharide et/ou un polyalkylèneglycol co-réticulé avec le polyphénol végétal précité.

Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux, la protéine précitée peut être douée d'une activité biologique spécifique, telle qu'une activité enzymatique, comme par exemple la catalase, la superoxyde dismutase, ou la glutathion peroxydase, et dans ce cas cette activité peut s'ajouter utilement à l'activité propre du ou des polyphénols végétaux, en particulier du ou des flavonoïdes.

Selon un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, les microcapsules précitées peuvent être préparées à partir d'un seul polyphénol végétal ou de mélanges d'origine naturelle ou non contenant des polyphénols végétaux, tels que par exemple les jus de fruits ou les extraits de plantes ou de parties de plantes.

Selon un autre mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, les polyphénols végétaux précités peuvent être des polyphénols végétaux monocycliques ou polycycliques, tels que les flavonoïdes, les isoflavonoïdes, les néoflavonoïdes, les tanins galliques et les tanins ellagiques, le catéchol et ses dérivés tels que la DL-3,4-dihydroxyphénylalanine ou DL-DOPA, ou les catécholamines telles que la 3-hydroxytyramine ou dopamine, ou le phloroglucinol, ou les acides phénols tels que l'acide caféique, l'acide dihydrocaféique, l'acide protocatéchique, l'acide chlorogénique, l'acide isochlorogénique, l'acide gentisique, l'acide homogentisique, l'acide gallique, l'acide hexahydroxydiphénique, l'acide ellagique, l'acide

rosmarinique, l'acide lithospermique, ou les dérivés des acides phénols, en particulier leurs esters ou leurs hétérosides, ou la curcumine, ou les coumarines polyhydroxylées, ou les lignanes ou les néolignanes polyhydroxylés, ou un mélange contenant un ou plusieurs polyphénols végétaux ou leurs dérivés, comme la silymarine. En particulier, tous les polyphénols précités peuvent être utilisés sous forme de préparations obtenues à partir de plantes ou de parties de plantes, telles que des extraits, des teintures, des jus de fruits, des vins.

Les polyphénols végétaux particulièrement avantageux dans le cadre de l'invention sont ceux qui sont extraits notamment des plantes appartenant aux genres suivants : Gingko, Lespedeza, Passiflora, Silybum, Citrus, Hamamelis, Thymus, Chamaemelum, Achillea, Equisetum, Sophora, Fagopyrum, Eucalyptus, Sambucus, Betula, Vitis, Pinus, Crataegus, Quercus, Ratanhia, Lythrum, Acacia, Cupressus, Vaccinium, Ribes, Centaurea, Rosa, Hibiscus, Malva, Podophyllum, Schizandra, Gaïacum, Arctostaphylos, Cynara, Rosmarinus, Orthosiphon, Solidago, Lithospermum, Curcuma, Aesculus, Melilotus, Ammi, Hieracium, Angelica, Asperula.

Selon une variante de réalisation avantageuse, les polyphénols végétaux précités sont des flavonoïdes choisis parmi le groupe consistant d'une flavone, telle que l'apigénol, le lutéolol, un flavonol comme la quercétine, le kaempferol, ou un hétéroside de flavone ou de flavonol, comme la rutine et ses dérivés, une flavanone comme la flavanone, la naringénine, l'hespérétine, ou un hétéroside de flavanone comme la naringine, l'hespéridine, la diosmine, ou un dérivé de flavanone comme le diosmoside, ou un biflavonoïde, ou un dimère de flavone ou de flavanone, comme l'amentoflavone, ou une chalcone telle que l'isoliquirtigénine ou l'hespéridine méthylchalcone, un flavanonol tel que le taxifoliol ou une substance dérivée de taxifoliol telle que la silybine, la silychristine, la silydianine, un flavan-3-ol tel que la (+) catéchine, la (-) épicatechine, un polymère formé d'unités de structure de base flavan-3-ol, généralement désigné sous le nom de "proanthocyanidine" ou sous l'expression "tanin condensé", en particulier un oligomère comprenant de 2 à 8 de ces unités, appelé généralement "oligomère procyanidolique" (OPC), un anthocyanoside comme le malvoside ou un mélange contenant un ou plusieurs flavonoïdes, en



particulier sous la forme d'extraits de fruits ou d'extraits de plantes ou de parties de plantes.

En particulier, le mélange de flavonoïdes précité est de préférence choisi dans le groupe constitué par des mélanges de citroflavonoïdes extraits de divers Citrus (Rutacées), un mélange de flavonoïdes extrait de Silybum marianum (Composées) ou la silymarine, les extraits de Ginkgo biloba (Ginkgoacées), les extraits riches en anthocyanosides de myrtille, de fruits de cassis, de peaux de raisin, de feuille de vigne rouge, les jus de fruits tels que les jus de raisin, de cassis, tels quels ou concentrés ou desséchés notamment par nébulisation ou lyophilisation, les vins rouges, tels quels ou concentrés ou desséchés, ou leurs divers mélanges.

Selon un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, la protéine précitée peut être choisie parmi le groupe consistant des albumines comme la sérumalbumine, l'ovalbumine, l'alpha-lactalbumine, les globulines, le fibrinogène, la caséine, les protéines végétales telles que les protéines du soja, les glutélines qui de préférence auront été dégradées, les scléroprotéines solubilisées, le collagène, l'atélocollagène, la gélatine, les hydrolysats de gélatine, les peptones, l'hémoglobine, les enzymes telles que la catalase, la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, des mélanges contenant des protéines hydrophiles, tels que le lait entier ou écrémé totalement ou partiellement, le lait en poudre, le lait condensé, les protéines du lactosérum, la farine de soja, les mélanges d'atélocollagène et de glycosaminoglycanes.

Selon un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, le polysaccharide précité peut être choisi parmi le groupe consistant des dextrans, de l'acide alginique et ses sels hydrosolubles, en particulier l'alginate de sodium, les gommes végétales, les carraghénanes, les pectines, les dérivés solubles d'amidon, les dérivés solubles de cellulose, les glycosaminoglycanes.

Selon un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, le polyalkylèneglycol peut être choisi parmi le groupe consistant des polyéthylèneglycols et des polypropylèneglycols.

Selon encore un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, les microcapsules précitées sont préparées par réticulation interfaciale à partir d'une émulsion dont la phase aqueuse contient de 1 % à 40 %, de préférence entre 1 et 20 %

en poids de polyphénols végétaux par rapport au poids total de la phase aqueuse. Lorsque une protéine précitée et/ou un polysaccharide précité et/ou un polyalkylèneglycol précité est présent, la concentration totale dans la phase aqueuse de cette, ou de ces, substance(s) est comprise avantageusement entre 0,1 et 30 % en poids, de préférence entre 1 et 10 % en poids, par rapport au poids total de la phase aqueuse.

Selon encore un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, les microcapsules précitées sont préparées par réticulation interfaciale à partir d'une émulsion dont la phase dispersée à encapsuler renferme une ou plusieurs substances actives hydrosolubles, liposolubles ou insolubles, incorporées à l'état de solution, de suspension ou d'émulsion, en particulier une substance minérale réfléchissante des radiations solaires, de préférence insoluble, une huile végétale, ou une solution huileuse contenant une substance active lipophile telle qu'un filtre solaire liposoluble. Ainsi, les microcapsules obtenues contiennent lesdites substances hydrosolubles, liposolubles ou insolubles.

Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux, les substances actives incorporées dans les microcapsules selon l'invention peuvent être choisies parmi le groupe consistant d'une substance minérale réfléchissante des radiations solaires, telle qu'un oxyde de fer, l'oxyde de titane, l'oxyde de zinc, le talc, le kaolin, une huile végétale telle qu'une huile de germes de céréales ou une huile de foie de poisson désodorisée, ou une solution huileuse d'une substance liposoluble telle que la vitamine A, la vitamine D2, la vitamine E ou tocophérol, un acide gras essentiel tel que l'acide linoléique, l'acide linolénique, l'acide arachidonique, une céramide, un dérivé liposoluble d'acide ascorbique tel que le palmitate d'ascorbyle, ou un filtre solaire liposoluble tel qu'un ester cinnamique, un ester paraaminobenzoïque, un ester salicylique, une benzophénone, le benzylidène camphre et ses dérivés, un dérivé du dibenzoylméthane, un benzimidazole, ou une substance photoactive telle que le bergaptène ou tout autre dérivé du psoralène, ou encore un mélange contenant plusieurs substances actives.

Selon un deuxième aspect, la présente invention couvre également un procédé de fabrication des microcapsules telles que précédemment définies, carac-

térisé en ce qu'on réalise une réticulation interfaciale d'une émulsion de type eau-dans-l'huile, comprenant les étapes essentielles suivantes :

a) on prépare une phase aqueuse contenant le polyphénol végétal ou le mélange de polyphénols végétaux à réticuler,

5

b) on prépare une phase hydrophobe, contenant éventuellement un ou plusieurs agents tensio-actifs,

10 c) on émulsionne ladite phase aqueuse dans la phase hydrophobe précitée, de sorte que la phase hydrophobe constitue la phase continue dans laquelle la phase aqueuse forme la phase dispersée,

15 d) on ajoute à l'émulsion ainsi obtenue l'agent réticulant dissous dans un liquide miscible à la phase hydrophobe, sous agitation, pour réaliser une réticulation interfaciale de l'agent réticulant et du ou des polyphénols végétaux contenus dans la phase aqueuse,

20 e) on maintient l'agitation pendant un temps de réaction convenable pour obtenir une réticulation suffisante conduisant à la formation de microcapsules dont la paroi comprend le ou les polyphénols végétaux réticulés par l'agent réticulant,

f) on recueille les microcapsules ainsi formées, par tout moyen approprié.

25 Selon un troisième aspect, la présente invention couvre également un procédé de fabrication des microcapsules précédemment définies, caractérisé en ce qu'on réalise une réticulation interfaciale d'une émulsion de type huile-dans-eau, comprenant les étapes essentielles suivantes :

a) on prépare une phase hydrophobe dans laquelle on dissout l'agent réticulant,

30

- b) on prépare une phase aqueuse contenant le polyphénol végétal ou le mélange de polyphénols végétaux à réticuler, et éventuellement un ou plusieurs agents tensio-actifs,
- 5 c) on émulsionne la phase hydrophobe dans la phase aqueuse précitée, de sorte que la phase aqueuse constitue la phase continue dans laquelle la phase hydrophobe forme la phase dispersée,
- 10 d) on maintient l'ensemble sous agitation pendant un temps de réaction convenable pour obtenir une réticulation suffisante conduisant à la formation de microcapsules dont la paroi comprend le ou les polyphénols végétaux réticulés par l'agent réticulant,
- e) on recueille les microcapsules ainsi formées, par tout moyen approprié.
- 15 L'étape d'émulsification, de l'un ou l'autre des procédés des deux aspects précédents, est réalisée en utilisant l'une des techniques bien connues de l'homme du métier, notamment en jouant sur les proportions respectives de la phase aqueuse et de la phase hydrophobe, et/ou en utilisant un ou plusieurs agents tensio-actifs appropriés dispersés dans la phase hydrophobe et/ou dans la phase aqueuse.
- 20 Pour obtenir une émulsion de type eau-dans-huile, on utilisera de préférence un ou plusieurs agents tensio-actifs choisis en particulier parmi les esters de sorbitan, tels que le Span 85<sup>®</sup>, les esters gras de glycérol, tels que le monooléate de glycérol, les esters gras de glycols, tels que le stéarate d'éthylèneglycol.
- 25 Pour obtenir une émulsion de type huile-dans-eau, on utilisera de préférence un ou plusieurs agents tensio-actifs choisis par exemple parmi les esters gras de sorbitan polyoxyéthylénés, ou Tween<sup>®</sup>, en particulier le Tween 20<sup>®</sup>. Il est à noter toutefois que, dans le cadre des procédés selon l'invention, la présence d'un agent tensio-actif n'est pas critique.
- 30 Cette étape d'émulsification est réalisée sous agitation par tout moyen approprié, en particulier par agitation mécanique ou au moyen d'ultra-sons ou encore au moyen d'un homogénéiseur haute pression, par exemple un homogénéiseur fonctionnant jusqu'à 700 bars, disponible dans le commerce. L'utilisation d'un

homogénéiseur haute pression est particulièrement avantageuse lorsque l'on souhaite obtenir des gouttelettes particulièrement fines.

En général, il est nécessaire de réaliser des lavages des microcapsules obtenues après réticulation, afin d'éliminer l'excès d'agent réticulant ainsi que le ou les polyphénols végétaux n'ayant pas réagi ou non encapsulés dans les microcapsules. Pour effectuer cette opération, les microcapsules sont séparées du milieu réactionnel par centrifugation ou décantation ou tout autre moyen approprié. Dans le cas du procédé comprenant l'émulsification eau-dans-huile, les microcapsules sont lavées par remise en suspension successivement dans un liquide hydrophobe tel que l'un des liquides utilisés pour constituer la phase hydrophobe de l'émulsion initiale, puis dans un alcool tel que l'éthanol ou le méthanol, purs ou dilués d'eau, puis dans l'eau. Dans le cas du procédé comprenant l'émulsification huile-dans-eau, les microcapsules sont lavées à l'eau ou dans une solution aqueuse appropriée.

Selon une variante de réalisation de l'un ou l'autre des procédés des aspects précédents, on ajoute à la phase aqueuse lors de sa préparation une protéine et/ou un polysaccharide et/ou un polyalkylèneglycol, la paroi des microcapsules formées par réaction de réticulation pouvant comprendre le ou les polyphénols végétaux co-réticulés avec ladite protéine et/ou ledit polysaccharide et/ou ledit polyalkylèneglycol, par l'agent réticulant.

L'incorporation de polyalkylèneglycols, en particulier d'un polyéthylèneglycol, à la phase aqueuse des microcapsules permet d'augmenter l'hydrophilie de ces microcapsules, surtout dans le cas où le produit polyphénolique utilisé pour la préparation des microcapsules présente un caractère relativement hydrophobe. Cette hydrophilie peut être réglée en augmentant la proportion de polyalkylèneglycol incorporé. Ainsi, ces microcapsules, placées en milieux aqueux, reprennent rapidement une forme sphérique et donnent des sédiments très faciles à disperser. De plus, les échanges entre l'intérieur des microcapsules et l'extérieur seront facilités, ce qui pourra permettre en particulier à des constituants du milieu extérieur de venir plus facilement au contact de groupements fonctionnels portés par la face interne de la membrane, augmentant ainsi l'activité des microcapsules. Par ailleurs, la présence d'un polyalkylèneglycol, en particulier d'un polyéthylèneglycol, dans les microcapsules, peut améliorer la rétention de molécules hydrosolubles encapsulées.

Selon un mode de réalisation avantageux de ces procédés, l'agent réticulant comprend un halogénure de diacide, en particulier un chlorure de diacide, de préférence choisi parmi le groupe consistant d'un chlorure de diacide aliphatique ou aromatique, tel que le chlorure de sébacoyl, le chlorure de succinyl, le chlorure d'adipoyl, le chlorure de téréphtaloyl, le chlorure de glutaryl. La concentration en halogénure de diacide sera de préférence comprise entre 0,2 % et 10 % en poids du poids total du milieu réactionnel.

Par ailleurs, le temps de réaction est naturellement variable en fonction des réactifs utilisés et notamment de la nature de l'halogénure, en particulier du chlorure de diacide. Généralement, le temps de réaction sera compris entre 5 min et 2 h et avantageusement sera compris entre 15 et 60 min.

D'autre part, il est avantageux que le pH de la réaction soit compris entre 8 et 14, et encore mieux entre 9 et 12. Pour assurer ce pH réactionnel, on peut utiliser des solutions tampons ou des solutions d'un agent alcalin, tel que la soude ou la potasse.

Comme substances utilisées pour constituer la phase hydrophobe, on pourra utiliser des substances liquides bien connues de l'homme de l'art.

Les substances liquides hydrophobes actuellement préférées sont choisies parmi le groupe consistant des hydrocarbures halogénés ou non, tels que le cyclohexane, le chloroforme ou le dichlorométhane, des esters d'acides gras, tels que le myristate d'isopropyle ou l'oléate d'éthyle, des mélanges d'esters d'acides gras disponibles dans le commerce, tels que par exemple le produit Dragoxat<sup>®</sup>, commercialisé par la firme DRAGOCO, des huiles végétales, telles que l'huile d'olive, l'huile d'amande douce ou l'huile d'arachide, des huiles minérales, telles qu'une huile de paraffine, et tout mélange de ces substances liquides hydrophobes.

Suivant une variante selon l'un quelconque des procédés précités, on incorpore à la phase devant être dispersée, constituant la phase liquide à encapsuler, une ou plusieurs substances actives, à l'état de solution, de suspension ou d'émulsion, en particulier une substance minérale réfléchissante des radiations solaires, de préférence insoluble, une huile ou une solution huileuse de substance liposoluble, telle qu'un filtre solaire liposoluble.

Ainsi, le procédé selon l'invention permet de régler à volonté la taille des microparticules, en particulier dans une plage de dimension allant de moins d'un micromètre à plus d'un millimètre. Généralement, le diamètre des microcapsules selon l'invention se situe dans l'intervalle compris entre 0,1  $\mu\text{m}$  (micromètre) et 3 mm.

5 Selon encore un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, les microcapsules à paroi de polyphénols végétaux réticulés selon la présente invention peuvent être utilisées brutes de fabrication, dites fraîches. Dans ce cas, elles contiennent de la phase dispersée, aqueuse ou hydrophobe, ce qui facilite leur incorporation à des véhicules respectivement hydrophiles ou hydrophobes.

10 Egalement, selon un mode de réalisation avantageux de l'invention, les microcapsules précitées peuvent se présenter sous forme d'une suspension aqueuse dont on peut ajuster la concentration, et qui est directement incorporable aux formulations comportant un véhicule hydrophile.

15 Selon un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, les microcapsules à paroi de polyphénols végétaux réticulés selon la présente invention peuvent être sous forme desséchée, notamment par lyophilisation, ce qui constitue un moyen aisé et fiable de stockage.

20 Ainsi, selon un mode de réalisation avantageux, les microcapsules précitées se présentent sous forme d'une poudre lyophilisée. Dans le cadre de l'invention, les microcapsules à paroi de polyphénols réticulés reprennent aisément une forme sphérique après réhydratation tout en conservant leur activité initiale.

25 Selon un quatrième aspect, la présente invention couvre encore des compositions, en particulier des compositions cosmétiques ou pharmaceutiques, notamment dermatologiques, des compositions diététiques, ou des compositions alimentaires, caractérisées en ce qu'elles comprennent des microcapsules à paroi de polyphénols végétaux réticulés telles que précédemment définies.

30 Selon un mode de réalisation avantageux, la concentration en microcapsules de polyphénols végétaux selon l'invention sera comprise entre 0,01 et 10 % en poids du poids total de la composition finale, encore mieux entre 0,1 et 5 % en poids de la composition finale.

Comme il a été dit précédemment, les microcapsules de l'invention à paroi de polyphénols végétaux réticulés conservent l'activité initiale des polyphénols

végétaux. En conséquence, elles sont particulièrement utiles pour agir comme piégeurs de radicaux libres grâce à leur activité anti-radicalaire. De ce fait, ces microcapsules sont avantageusement utilisées dans des compositions cosmétiques ou pharmaceutiques, notamment dermatologiques, destinées à prévenir le vieillissement cutané, notamment le vieillissement actinique.

Ainsi également, et selon un cinquième aspect, la présente invention couvre encore une méthode de traitement cosmétique ou pharmaceutique, notamment dermatologique, d'un être humain pour la prévention du vieillissement cutané, notamment du vieillissement actinique dû généralement aux radicaux libres, caractérisée en ce qu'on applique une quantité efficace de microcapsules à paroi de polyphénols végétaux réticulés selon l'invention, éventuellement incluses dans un excipient, véhicule ou support cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptable, sur les zones de la peau ou des cheveux sensibles à l'action des radicaux libres, notamment les radicaux libres résultant d'une exposition actinique. Lors de ce traitement, la concentration en microcapsules sera habituellement comprise entre 0,01 et 10 % en poids, et de préférence entre 0,1 et 5 % en poids de la composition contenant les microcapsules.

Naturellement, ces compositions peuvent se présenter sous diverses formes cosmétiquement, pharmaceutiquement, alimentaires ou diététiquement acceptables. Ces formes sont bien connues de l'homme de l'art. On citera à titre d'exemples non limitatifs des crèmes, des pommades, des lotions, notamment des lotions capillaires, des gels, des laits, des suspensions, des poudres, des gélules.

Enfin, selon un sixième aspect, la présente invention couvre encore un procédé de préparation d'une composition incorporant un ou plusieurs polyphénols végétaux, caractérisé en ce qu'en vue de prévenir toute altération, notamment toute modification de coloration de la composition au cours du temps, tout en conservant l'activité des polyphénols végétaux, notamment l'activité anti-radicalaire, et/ou anti-oxydante et/ou biologique, ces derniers sont incorporés dans ladite composition sous forme de microcapsules telles que définies précédemment ou obtenues par la mise en oeuvre de l'un des procédés décrits ci-dessus.

Il est à noter que dans le cadre de l'un ou l'autre des aspects précédents, les diverses variantes de réalisation n'ont pas été répétées mais il est bien clair que



l'invention couvre pour chacun des aspects, et de manière indépendante, chacune et toutes les variantes de réalisation qui ont pu être décrites précédemment ou dans la suite de la description pour l'un ou l'autre des aspects de l'invention.

5 D'autres buts, caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront clairement à la lumière de la description explicative qui va suivre faite en référence à divers exemples de réalisation de l'invention donnés simplement à titre d'illustration et qui ne sauraient donc en aucune façon limiter la portée de l'invention. Dans les exemples, tous les pourcentages sont donnés en poids, sauf indication contraire.

10 Exemple 1

Fabrication de microcapsules constituées d'oligomères procyanidoliques d'écorce de pin (OPC EP) réticulés par le chlorure de téréphtaloyl (CT)

a) Préparation de la phase aqueuse

15 Dans 3 ml d'un tampon carbonate pH 11 on dissout 300 mg d'OPC EP (SARPAP).

b) Emulsification

20 On émulsionne 3 ml de cette solution dans 15 ml de cyclohexane additionné de 5 % de Span 85<sup>®</sup>, par agitation à 3000 rpm.

c) Addition de l'agent réticulant

25 Après 5 min, on ajoute à l'émulsion 20 ml d'une solution à 5 % (p/v) de CT (Janssen Chimica) dans un mélange de chloroforme: cyclohexane 1:4 (v/v) et l'agitation est maintenue pendant 30 min.

d) Lavages

30 Les microcapsules sont séparées par centrifugation et lavées par remise en suspension successivement dans le cyclohexane, dans l'éthanol à 95 % additionné de 2 % de Tween 20<sup>®</sup>, dans l'alcool à 95 % et finalement dans l'eau distillée.

On obtient un sédiment beige de microcapsules. L'examen en microscopie optique montre de belles microcapsules rondes, transparentes, très indépendantes, de

taille 5 à 20  $\mu\text{m}$ . Les microcapsules sont intactes après lyophilisation. L'examen en microscopie électronique à balayage montre des particules bien individualisées avec une membrane continue .

- 5     **Stabilité :** A l'état de suspension aqueuse, les microparticules peuvent être conservées au moins 7 mois à  $+4^{\circ}\text{C}$ , au moins 3 mois 1/2 à  $20^{\circ}\text{C}$ , et au moins 3 mois 1/2 à  $+45^{\circ}\text{C}$ : les microcapsules sont intactes, leur couleur n'est pas modifiée, et le surnageant est incolore.

- 10    **Activité anti-radicalaire des microcapsules lyophilisées :**

La mesure de l'activité anti-radicalaire a été effectuée conformément au test d'activité décrit à l'exemple 37.

- 15    Le résultat de ce test est exprimé en pourcentage de piégeage des radicaux libres par rapport à un échantillon témoin ne contenant pas de piègeur de radicaux libres. Par ailleurs, on a également mesuré la conservation de l'activité anti-radicalaire, donc de piégeage des radicaux libres, en effectuant une comparaison avec des flavonoïdes non réticulés, ici des oligomères procyanidoliques de pépins de raisin (OPC PR).

- 20    Les résultats figurent au tableau II en fin de description. On rappelle ici que l'activité anti-radicalaire des microcapsules selon l'invention de cet exemple est de  $81 \pm 4 \%$  ce qui est essentiellement similaire à l'activité anti-radicalaire des OPC PR de  $91 \pm 2 \%$ , ce qui démontre la conservation de l'activité initiale des flavonoïdes malgré la réticulation.

- 25    **Exemple 2**

**Fabrication de microcapsules constituées d'oligomères procyanidoliques d'écorce de pin (OPC EP ) réticulés par le chlorure de téréphtaloyle (CT)**

a) **Préparation de la phase aqueuse**

- 30    Dans 3 ml d'un tampon carbonate pH 9,8 on dissout 300 mg d'OPC EP (SARPAP).

b) Emulsification

On émulsionne 3 ml de cette solution dans 15 ml de cyclohexane additionné de 5 % de Span 85<sup>®</sup>, par agitation à 3 000 rpm.

5

c) Addition de l'agent réticulant

Après 5 min, on ajoute à l'émulsion 20 ml d'une solution à 2,5 % (p/v) de CT (Janssen Chimica) dans un mélange de chloroforme: cyclohexane 1:4 (v/v) et l'agitation est maintenue pendant 30 min.

10

On obtient un sédiment de couleur chamois formé de microcapsules transparentes de diamètre moyen 30  $\mu$ m. Les microcapsules sont intactes après un an de conservation à l'état de suspension aqueuse à 20°C. Leur couleur n'a pas changé et le surnageant est parfaitement incolore.

15 Exemple 3

Fabrication de microcapsules constituées d'oligomères procyanidoliques d'écorce de pin (OPC EP) et de sérumalbumine bovine (BSA) co-réticulés par le chlorure de téréphthaloyle (CT).

Le protocole décrit à l'exemple 1 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % d'OPC EP et 5% de BSA (Fraction V, Sigma) dans le tampon pH 11.

20

On obtient un sédiment beige formé de belles microcapsules indépendantes, de diamètre 5-10  $\mu$ m.

25 **Stabilité :** A l'état de suspension aqueuse, les microparticules peuvent être conservées au moins 7 mois à +4°C, au moins 1 mois à 20°C, et au moins 3 semaines à +45°C : les microcapsules sont intactes, leur couleur n'est pas modifiée, et le surnageant est incolore.

30 **Résultats de la détermination de l'activité anti-radicalaire sur microcapsules lyophilisées :** le piégeage est de  $51 \pm 1$  %. (voir tableau II)

#### Exemple 4

Fabrication de microcapsules constituées d'oligomères procyanidoliques d'écorce de pin (OPC EP) et d'ovalbumine réticulés par le chlorure de téréphtaloyle (CT).

Le protocole décrit à l'exemple 1 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % d'OPC EP et 5 % d'ovalbumine (Sigma) dans le tampon carbonate pH 11.

On obtient un sédiment formé de microcapsules de diamètre 10-80  $\mu\text{m}$ .

#### Exemple 5

Fabrication de microcapsules constituées d'oligomères procyanidoliques de pépins de raisins (OPC PR) réticulés par le chlorure de téréphtaloyle (CT).

Le protocole décrit à l'exemple 1 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution d'oligomères procyanidoliques de pépins de raisins (OPC PR, SARPAP) à 10 % dans le tampon pH 11.

On obtient un sédiment chamois formé de belles microcapsules sphériques, transparentes de diamètre 5-25  $\mu\text{m}$ . L'examen en microscope électronique à balayage montre des particules indépendantes à membrane continue.

Stabilité : A l'état de suspension aqueuse, les microparticules peuvent être conservées au moins 6 mois à +4°C, au moins 1 mois à 20°C, et au moins 3 semaines à +45°C : les microcapsules sont intactes, leur couleur n'est pas modifiée, et le surnageant est incolore.

Résultats de la détermination de l'activité anti-radicalaire sur microcapsules lyophilisées : le piégeage est de  $71 \pm 2$  %. (Voir tableau II)

#### Exemple 6

Fabrication de microcapsules constituées d'oligomères procyanidoliques de pépins de raisins (OPC PR) et de protéines du lactosérum co-réticulés par le chlorure de téréphtaloyle (CT).

Le protocole décrit à l'exemple 1 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % d'oligomères procyanidoliques de pépins de

raisins (OPC PR, SARPAP) et 5 % d'un concentré de protéines du lactosérum (Prosobel S65E, Bel Industries), dans le tampon pH 11.

On obtient un volumineux sédiment marron clair de microcapsules sphériques de diamètre 5–20  $\mu\text{m}$ . L'examen en microscopie électronique à balayage  
5 montre des particules indépendantes à membrane continue.

Stabilité : A l'état de suspension aqueuse, les microparticules peuvent être conservées au moins 7 mois à +4°C, au moins 1 mois à 20°C, et au moins 3 semaines à +45°C :  
10 les microcapsules sont intactes, leur couleur n'est pas modifiée, et le surnageant est incolore.

Activité anti-radicalaire des microcapsules lyophilisées : le piégeage est de  $83 \pm 1$  %.  
(Voir tableau II)

#### 15 Exemple 7

Fabrication de microcapsules constituées d'oligomères procyanidoliques de pépins de raisins(OPC PR) réticulés par le chlorure de sébacoyl (CS)

##### a) Préparation de la phase aqueuse

20 Dans 3 ml de soude 2 M, on dissout 300 mg d'OPC PR (SARPAP).

##### b) Emulsification

On émulsionne 3 ml de cette solution dans 15 ml de cyclohexane additionné de 5 % de Span 85<sup>®</sup>, par agitation à 3 000 rpm.

25

##### c) Addition de l'agent réticulant

Après 5 min, on ajoute à l'émulsion 20 ml d'une solution à 5 % (v/v) de CS (SIGMA) dans un mélange de chloroforme: cyclohexane 1:4 (v/v) et l'agitation est maintenue pendant 30 min.

30

d) Lavages

Ils sont effectués comme décrit à l'exemple 1.

On obtient des microcapsules de taille 5–15  $\mu\text{m}$ . L'examen en  
microscopie électronique à balayage montre des particules indépendantes à membrane  
5 continue.

Exemple 8

Fabrication de microcapsules constituées d'oligomères procyanidoliques de pépins de  
raisins(OPC PR) et de protéines du lactosérum co-réticulés par le chlorure de  
10 sébacoyl (CS).

Le protocole décrit à l'exemple 7 est reproduit en utilisant comme phase  
aqueuse une solution renfermant 10 % d'OPC PR et 5 % d'un concentré de protéines  
du lactosérum (Prosobel S65E, Bel Industries) dans la soude 2 M.

On obtient un volumineux sédiment formé de belles microcapsules de  
15 diamètre 10–20  $\mu\text{m}$ .

Exemple 9

Fabrication de microcapsules constituées de catéchine réticulée par le chlorure de  
20 téréphthaloyl (CT).

Le protocole décrit à l'exemple 1 est appliqué en utilisant comme phase  
aqueuse une solution à 10 % de catéchine ((+)catechin,SIGMA) dans la soude 2 M.

On obtient un sédiment ocre de belles microcapsules de diamètre 5–  
15  $\mu\text{m}$ .

25 Stabilité : A l'état de suspension aqueuse, les microparticules peuvent être conservées  
au moins 1 mois à 20°C, et au moins 3 semaines à + 45°C : les microcapsules sont  
intactes, leur couleur n'est pas modifiée, et le surnageant est incolore.

Activité anti-radicalaire des microcapsules lyophilisées: le piégeage est de 79±3 %.  
30 (Voir tableau II)

### Exemple 10

Fabrication de microcapsules constituées de catéchine et d'ovalbumine co-réticulées par le chlorure de téréphtaloyle (CT).

Le protocole décrit à l'exemple 1 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % de catéchine et 2 % d'ovalbumine (SIGMA) dans la soude 2 M.

On obtient un sédiment de microcapsules indépendantes de diamètre 10-20  $\mu\text{m}$ .

### Exemple 11

Fabrication de microcapsules constituées de catéchine et de protéines du lactosérum co-réticulées par le chlorure de téréphtaloyle.

Le protocole décrit à l'exemple 1 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % de catéchine et 3 % d'un concentré de protéines du lactosérum (Prosobel S65E, Bel Industries), dans la soude 2 M.

On obtient un volumineux sédiment jaune formé de belles microcapsules de diamètre 5-20  $\mu\text{m}$ .

Stabilité : A l'état de suspension aqueuse, les microparticules peuvent être conservées au moins 1 mois à 20°C, et au moins 3 semaines à + 45°C : les microcapsules sont intactes, leur couleur n'est pas modifiée, et le surnageant est incolore.

Résultats de la détermination de l'activité anti-radicalaire sur microcapsules lyophilisées : le piégeage est de  $64 \pm 5$  %.

### Exemple 12

Fabrication de microcapsules constituées de catéchine réticulée par le chlorure de sébacoyl (CS).

Le protocole décrit à l'exemple 7 est reproduit en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % de catéchine dans la soude 2 M.

On obtient des microcapsules de diamètre 5-25  $\mu\text{m}$ .

Exemple 13

Fabrication de microcapsules constituées de catéchine et d'ovalbumine co-réticulées par le chlorure de sébacoyl (CS).

5 Le protocole décrit à l'exemple 7 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % de catéchine et 2 % d'ovalbumine dans la soude 2 M.

On obtient un volumineux sédiment formé de belles microcapsules de diamètre 5-20  $\mu\text{m}$ .

10 Exemple 14

Fabrication de microcapsules constituées de catéchine et de protéines du lait co-réticulées par le chlorure de sébacoyl (CS).

Préparation de la phase aqueuse :

15 On mélange 4 ml de lait (Viva, CANDIA) à 2 ml de soude 6 M. On dissout dans cette solution de la catéchine à la concentration de 10 %.

On utilise 3 ml de la solution obtenue pour l'émulsionner dans les conditions décrites à l'exemple 7. La réticulation et les lavages sont ensuite effectués comme décrit à l'exemple 7.

20 On obtient un volumineux sédiment formé de belles microcapsules de diamètre 5-25  $\mu\text{m}$ .

Exemple 15

25 Fabrication de microcapsules constituées d'oligomères procyanidoliques de pépins de raisins (OPC PR) réticulés par le chlorure de téréphtaloyl (CT).

Le protocole décrit à l'exemple 1 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution d'oligomères procyanidoliques de pépins de raisins (Leucocianidine, INDENA) à 10 % dans le tampon pH 11, et une vitesse d'agitation de 5 000 rpm. Les microcapsules sont lavées successivement dans le cyclohexane, dans 30 l'éthanol à 95 % additionné de 2 % de Tween 20<sup>®</sup>, dans le méthanol et finalement dans l'eau distillée.



On obtient un sédiment de couleur chamois formé de belles microcapsules sphériques, transparentes. Le diamètre moyen déterminé à l'aide d'un granulomètre Coulter LS 100 (Coultronics) est de  $6,57 \mu\text{m} \pm 0,25$ .

- 5 Stabilité : A l'état de suspension aqueuse, les microparticules peuvent être conservées au moins 5 mois à 4°C, à 20°C et à 45°C. Les microcapsules sont intactes, leur couleur n'est pas modifiée, et le surnageant est incolore.

- Détermination de l'activité anti-radicalaire sur microcapsules fraîches en suspension  
10 dans l'eau distillée (concentration d'environ 0,7 % en poids sec de microcapsules), voir tableau II.

#### Exemple 16

- Fabrication de microcapsules constituées d'oligomères procyanidoliques de pépins de raisin (OPC PR) et de dextran co-réticulés par le chlorure de téréphtaloyle (CT).  
15

Le protocole décrit à l'exemple 15 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % d'OPC PR (Leucocianidine, INDENA) et 5 % de dextran (average mol. 41600, Sigma) dans le tampon pH 11.

- On obtient un sédiment de couleur chamois formé de belles microcapsules  
20 indépendantes, transparentes, à paroi épaisse de diamètre 5-15  $\mu\text{m}$ . A l'état de suspension aqueuse, ces microcapsules peuvent être conservées au moins 6 semaines à 20°C. Le surnageant reste incolore.

#### Exemple 17

- Fabrication de microcapsules à partir d'extrait sec de myrtille et de chlorure de téréphtaloyle (CT).  
25

On utilise un extrait sec hydroalcoolique de myrtille contenant des anthocyanosides en quantité correspondant à 15 % d'anthocyanidines (INDENA).

- Le protocole décrit à l'exemple 1 est appliqué en utilisant comme phase  
30 aqueuse une solution à 10 % de cet extrait dans le tampon pH 11.

On obtient un sédiment de couleur rouge lic de vin, formé de belles microcapsules de 2 à 15  $\mu\text{m}$  de diamètre, transparentes et à membrane nettement

visible. Les microcapsules se remettent très facilement en suspension dans l'eau, donnant une suspension de couleur uniforme. Appliquée sur la peau, elle ne laisse aucune tache. Après sédimentation, la suspension laisse un surnageant incolore. Il en est de même après 15 jours de conservation à 20°C ou à 45°C.

5

#### Exemple 18

##### Fabrication de microcapsules à partir de jus de raisin rouge et de chlorure de téréphtaloyle (CT).

On ajoute à 2 ml de jus de raisin ("Raisin rouge, pur jus" BONNETERRE)  
10 1 ml de tampon pH 11.

Le protocole décrit à l'exemple 1 est appliqué en utilisant ce mélange comme phase aqueuse et en utilisant une vitesse d'agitation de 5 000 rpm.

On obtient un sédiment de couleur blanc cassé, formé de microcapsules à paroi fine, de 1 à 4  $\mu\text{m}$  de diamètre.

15

#### Exemple 19

##### Fabrication de microcapsules à partir de lyophilisat de jus de raisin rouge et de chlorure de téréphtaloyle (CT).

On prépare un lyophilisat de jus de raisin ("Raisin rouge, pur jus" BONNETERRE). On prépare ensuite une solution à 15 % de ce lyophilisat dans le  
20 tampon pH 11.

Le protocole décrit à l'exemple 1 est appliqué en utilisant ce mélange comme phase aqueuse.

On obtient un sédiment beige formé de belles microcapsules  
25 transparentes, à membrane bien visible, de diamètre 10 à 30  $\mu\text{m}$ .

#### Exemple 20

##### Fabrication de microcapsules à partir de jus de cassis et de chlorure de téréphtaloyle (CT).

On ajoute à 2 ml de jus de cassis ("Nectar de cassis", EDEN) 1 ml de  
30 tampon pH 11.

Le protocole décrit à l'exemple 1 est appliqué en utilisant ce mélange comme phase aqueuse et en utilisant une vitesse d'agitation de 5 000 rpm.

On obtient un sédiment de couleur rose pale, formé de microcapsules à paroi fine, de 2 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre.

5

#### Exemple 21

#### Fabrication de microcapsules à partir de vin rouge et de chlorure de téréphtaloyle (CT).

On ajoute à 2 ml de vin rouge (Bordeaux: Château Grave de Blanquet, 10 1989) 1 ml de tampon pH 11.

Le protocole décrit à l'exemple 1 est ensuite reproduit en utilisant ce mélange comme phase aqueuse et en utilisant une vitesse d'agitation de 5 000 rpm.

On obtient un culot rose pâle formé de très petites microcapsules de 1 à 3  $\mu\text{m}$  de diamètre.

15

#### Exemple 22

#### Fabrication de microcapsules à partir d'extrait de peau de raisin en poudre et de chlorure de téréphtaloyle (CT).

On prépare une solution à 10 % d'un extrait de peau de raisin en poudre 20 ("Biocon grape skin extract powder", QUEST International) dans le tampon pH 11.

Le protocole décrit à l'exemple 1 est appliqué en utilisant ce mélange comme phase aqueuse et une solution à 2,5 % de CT.

On obtient un culot de couleur prune formé de microcapsules de diamètre 5-30  $\mu\text{m}$ . Ces microcapsules se dispersent facilement dans l'eau, donnant une 25 suspension de couleur lie de vin homogène ne tachant pas la peau. La suspension laisse après sédimentation un surnageant incolore.

Après un mois à 4°C ou à 45°C, le surnageant de la suspension aqueuse de microcapsules est toujours incolore, tandis que le culot de microcapsules a toujours une couleur prune.

30

### Exemple 23

Fabrication de microcapsules à partir d'extrait sec de myrtille, d'oligomères procyanidoliques et de chlorure de téréphtaloyle (CT).

On utilise un extrait sec hydroalcoolique de myrtille contenant des anthocyanosides en quantité correspondant à 15 % d'anthocyanidines (INDENA).

On prépare une solution renfermant 10 % de cet extrait, et 5 % d'OPC PR (Leucocianidine, INDENA) dans le tampon pH 11.

Le protocole décrit à l'exemple 1 est appliqué en utilisant cette solution comme phase aqueuse.

On obtient un culot de microcapsules rouge framboise, de diamètre 5 à 15  $\mu\text{m}$ , se dispersant facilement dans l'eau pour donner une suspension de couleur homogène. Après sédimentation, le surnageant est incolore.

### Exemple 24

Fabrication de microcapsules constituées d'oligomères procyanidoliques de pépin de raisin (OPC PR) réticulés par le chlorure de téréphtaloyle (CT), et contenant une huile.

On prépare une solution à 10 % d'OPC PR (SARPAP) dans le tampon pH 11. On émulsionne 2 ml d'huile d'olive dans 12 ml de cette solution par agitation de 2 min à 5 000 rpm.

Puis, on abaisse la vitesse d'agitation à 3 000 rpm et on ajoute 60 ml de cyclohexane renfermant 5 % de Span 85®.

Après 3 min d'agitation on ajoute à l'émulsion 80 ml d'une solution à 5 % (p/v) de CT dans un mélange de chloroforme : cyclohexane 1:4 (v/v) et l'agitation est maintenue pendant 30 min.

Le milieu réactionnel est dilué par addition de 50 ml de cyclohexane, puis les microcapsules sont séparées par centrifugation et lavées par remise en suspension successivement dans le cyclohexane, dans l'eau additionnée de 2 % de Tween 20®, et finalement dans l'eau distillée.

On obtient des microcapsules de couleur chamois, flottant à la surface de l'eau. L'examen microscopique montre des vésicules sphériques contenant des gouttelettes brillantes réfringentes.

### Exemple 25

Fabrication de microcapsules à partir d'oligomères procyanidoliques, de catalase et de chlorure de téréphtaloyle (CT).

On prépare une solution renfermant 10 % d'OPC PR (Leucocianidine, INDENA) et 3 % de catalase (de foie de bovin, C-10, SIGMA) dans le tampon pH 11.

Le protocole décrit à l'exemple 1 est appliqué en utilisant cette solution comme phase aqueuse.

On obtient de belles microcapsules de couleur chamois, de diamètre 10-30  $\mu\text{m}$ .

Lorsqu'on prélève avec une spatule une petite quantité de microcapsules fraîchement préparées et qu'on les met au contact d'eau oxygénée à 110 volumes, on observe immédiatement une mousse abondante, ce qui montre que la catalase contenue dans les microcapsules conserve une activité enzymatique.

### Exemple 26

Fabrication de microcapsules constituées d'acide caféique réticulé par le chlorure de téréphtaloyle (CT).

Dans 6 ml d'un tampon pH 9,8, on dissout 600 mg d'acide caféique (Sigma). On émulsionne cette solution dans 30 ml de cyclohexane additionné de 5 % de Span 85<sup>®</sup>, par agitation à 5 000 rpm. Après 5 min, on ajoute à l'émulsion 40 ml d'une solution à 5 % (p/v) de CT dans un mélange de chloroforme : cyclohexane 1:4 (v/v) et l'agitation est maintenue pendant 30 min. On ajoute ensuite 40 ml de cyclohexane au milieu réactionnel pour arrêter la réaction.

Après lavages, on obtient un sédiment de couleur blanc crème, formé de microcapsules de diamètre 2-10  $\mu\text{m}$ , à contenu clair, et à paroi nette. Après lyophilisation, on obtient une poudre blanche. L'examen microscopique de la poudre réhydratée montre des microcapsules intactes et sphériques.

Exemple 27Fabrication de microcapsules constituées de phloroglucinol réticulé par le chlorure de téréphtaloyle

5 Le protocole décrit à l'exemple 26 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % de phloroglucinol (Sigma) dans le tampon pH 11. On obtient un sédiment blanc formé de microcapsules à contenu granuleux, de diamètre 2-10  $\mu\text{m}$ .

Exemple 28

10 Fabrication de microcapsules constituées d'acide protocatéchique réticulé par le chlorure de téréphtaloyle

15 Le protocole décrit à l'exemple 26 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % d'acide protocatéchique (Sigma) dans le tampon pH 11. On obtient un sédiment blanc, formé de microcapsules à contenu clair de diamètre 2-10  $\mu\text{m}$ .

Exemple 29

20 Fabrication de microcapsules constituées de DL-3,4-dihydroxyphénylalanine (DL-DOPA) réticulée par le chlorure de téréphtaloyle

20 Le protocole décrit à l'exemple 26 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % de DL-DOPA (Sigma) dans le tampon pH 9,8. On obtient un sédiment de couleur kaki, formé de microcapsules à contenu granuleux de diamètre 2-10  $\mu\text{m}$ .

25 Exemple 30

Fabrication de microcapsules constituées de curcumine réticulée par le chlorure de téréphtaloyle

30 Le protocole décrit à l'exemple 26 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % de curcumine (Sigma) dans la soude 1M. On obtient un sédiment de couleur jaune vif, formé de microcapsules à contenu clair, de diamètre 2-10  $\mu\text{m}$ .

Exemple 31Fabrication de microcapsules constituées d'acide ellagique réticulé par le chlorure de téréphtaloyle

Le protocole décrit à l'exemple 26 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % d'acide ellagique (Sigma) dans le tampon pH 11. On obtient un sédiment de couleur brun-vert, formé de microcapsules de diamètre 10-15  $\mu\text{m}$ .

Exemple 32Fabrication de microcapsules à partir de silymarine

Le protocole décrit à l'exemple 26 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % de silymarine (Silimarina /S Indena) dans la soude 3M. On obtient un sédiment orange clair, formé de microcapsules de forme irrégulière, de diamètre 2-8  $\mu\text{m}$ .

Exemple 33Fabrication de microcapsules à partir de rutine

Le protocole décrit à l'exemple 26 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % de rutine (trihydrate, Sigma) dans la soude 1M. On obtient un sédiment orange, formé de microcapsules sphériques, de diamètre 3-5  $\mu\text{m}$ .

Exemple 34Fabrication de microcapsules à partir d'un extrait de Gingko biloba

Le protocole décrit à l'exemple 26 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % d'extrait sec de Gingko biloba (Indena) dans la soude 3M. Après dispersion dans l'eau distillée, on obtient un sédiment de faible volume, compact, de couleur beige, formé de microcapsules de forme irrégulière, de diamètre moyen 10,79  $\mu\text{m}$  (détermination au granulomètre Coulter LS 100®, Coultronics).

### Exemple 35

#### Fabrication de microcapsules à partir d'un extrait de Gingko biloba avec addition d'un polyéthylèneglycol

Le protocole décrit à l'exemple 26 est appliqué en utilisant comme phase aqueuse une solution renfermant 10 % d'extrait sec de Gingko biloba (Indena) dans de la soude 3M contenant 5 % v/v de polyéthylèneglycol [PEG 200, Sigma]. Après dispersion dans l'eau distillée, on obtient un volumineux sédiment de couleur beige, formé de microcapsules parfaitement sphériques, de diamètre moyen 27,94  $\mu\text{m}$  (détermination au granulomètre Coulter LS 100®, Coultronics).

Cet exemple montre que l'addition d'un polyéthylèneglycol à la phase aqueuse permet d'augmenter l'hydrophilie des microcapsules.

### Exemple 36

#### Fabrication de microcapsules à partir d'oligomères procyanidoliques de pépins de raisins (OPC-PR) réticulés par le chlorure de sébacoyl et renfermant une huile

On prépare une phase aqueuse contenant 15 % d'OPC PR (INDENA) dans le tampon de pH 11.

On prépare une phase huileuse par addition de 0,3 ml de chlorure de sébacoyl à 6 ml d'huile d'olive.

On émulsionne 3 ml de la phase huileuse, utilisée comme phase dispersée, dans 10 ml de la phase aqueuse, par agitation à 5000 rpm.

On laisse la réaction se développer pendant 60 minutes.

Le milieu est dilué par addition de 100 ml d'eau distillée. Puis, les microcapsules sont séparées et lavées à l'eau.

On obtient un surageant de couleur blanc crème formé de microcapsules de diamètre 10-30  $\mu\text{m}$ . L'examen microscopique montre que chaque gouttelette d'huile est emprisonnée dans une membrane. Les microcapsules, mises en dispersion dans l'eau, sont stables au moins 2 mois à l'étuve à 45°C : les microcapsules sont intactes, et l'eau de dispersion est incolore.



### Exemple 37

#### Mise en évidence de l'activité anti-radicalaire des microcapsules selon l'invention

Différentes microcapsules selon l'invention ont été testées pour leur capacité à piéger les radicaux libres.

5 Le test utilisé était le test dit "test NBT" (nitrobleu de tetrazolium), dont le principe utilise la réaction de réduction du NBT en une substance colorante bleue, le bleu de formazan, par des anions superoxydes  $O_2^-$  formés à partir du système enzymatique hypoxanthine - xanthine oxydase. La xanthine oxydase catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine puis en acide urique avec formation  
10 d'anions superoxydes. Si le composé testé, introduit dans le milieu réactionnel, possède une activité anti-radicalaire, il "piégera" les anions superoxydes et, de ce fait, réduira la formation de colorant bleu.

Ce test est bien connu de l'homme de l'art et a été utilisé et décrit notamment par : DE LAMIRANDE E. et al., Fertility and sterility, 1993, 59 (6),  
15 1291-5 ; RAMESH Chander et al., Biochemical Pharmacology, 1992, 44 (1), 180-183.

La formation du bleu de formazan est déterminée colorimétriquement, par exemple au moyen d'un spectrophotomètre UV - visible, à la longueur d'onde de 560 nm.

20 La formation de ce colorant en fonction du temps est linéaire pendant les cinq premières minutes. L'activité réductrice de l'anion superoxyde sera donc exprimée par la pente de la droite obtenue. Cette pente, rapportée à celle d'un témoin ne comportant pas de "piégeur" de radicaux libres, permettra d'établir l'efficacité de l'effet piégeur du produit testé.

25

#### Mode opératoire

##### 1 - Réactifs :

- 30 [T] : Tampon TRIS-HCl 0,05 M pH 7,4 (TRIZMA PRE-SET pH crystals, SIGMA)  
[N] : Nitrobleu de Tétrazolium  $10^{-3}$  M (Grade III, SIGMA) préparé dans [T]  
[H] : Hypoxanthine  $0,5 \cdot 10^{-2}$  M, préparée dans [T]  
[X.O] : Xanthine Oxydase 1,67 U/ml préparée dans [T]

Les solutions d'hypoxanthine et de xanthine oxydase sont préparées extemporanément ; la solution de N.B.T. peut être conservée plusieurs jours au réfrigérateur à +4°C et à l'obscurité.

5    2 - Préparation des échantillons :

Les produits essayés, c'est-à-dire les microcapsules de polyphénols végétaux réticulés selon l'invention, ont été dispersés dans la solution [T] à la concentration de 1 mg de produit par ml de tampon. On a ainsi utilisé soit des microcapsules préalablement lyophilisées que l'on a dispersées directement dans la solution tampon, soit des microcapsules séparées par centrifugation d'une suspension fraîchement obtenue selon les procédés décrits dans les exemples précédents.

A titre d'essai comparatif, on a également préparé une solution des mêmes polyphénols végétaux non réticulés, à une concentration de 1 mg/ml dans [T].

15    3 - Matériel :

Les analyses ont été effectuées sur un spectrophomètre de type UV - visible relié à un enregistreur. La longueur d'onde est réglée à 560 nm.

4 - Mise en oeuvre :

20    A chaque analyse de produit, trois séries de cuves pour spectrophotomètre sont préparées à partir des réactifs et des dispersions ou solutions de produits à essayer décrits précédemment. Le contenu de ces cuves est résumé dans le tableau I ci-dessous, dans lequel les quantités de produits ou réactifs sont exprimées en ml.

25

30

TABLEAU I

	ESSAI	REACTIFS (ml)			
		[T]	[N]	[H]	[E]
CUVES 0	0 %	2,4	0,1	0,5	---
CUVES 1	100 %	2,3	0,1	0,5	---
CUVES 2	X	2,2	0,1	0,5	0,1

[E] : échantillon à étudier.

5

Après homogénéisation, ces solutions sont équilibrées avec l'air-ambiant, à 25° + ou - 1°C pendant 20 min. Au bout de 20 min, chacune de ces cuves fait l'objet d'un enregistrement spectrophotométrique pendant 5 min. La cuve 0 est enregistrée directement.

10

L'enregistrement des cuves 1 et 2 ne commence que sitôt après avoir disposé, dans le milieu réactionnel, 0,1 ml de la solution de xanthine oxydase.

Plus précisément, l'enregistrement des cuves 2 sera effectué à un temps précis, par exemple à 2, 3, 4 ou 5 min après l'introduction de l'enzyme. On aura pris soin, avant d'effectuer la lecture photométrique, d'éliminer, par exemple par  
15 centrifugation, les microcapsules de la solution contenue dans les cuves. Il est donc nécessaire, en début d'expérience de préparer un nombre suffisant de cuves 2 pour réaliser les lectures photométriques aux différents temps désirés.

L'enregistrement spectrophotométrique des cuves 0 donne la pente moyenne P0 qui est très voisine de 0. Celui des cuves 1 donne la pente moyenne P1 et  
20 représente le 100 %, c'est-à-dire l'effet maximal de l'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Enfin, celui des cuves 2 donne la pente moyenne P2 qui est intermédiaire entre P0 et P1. Cette pente traduit l'inhibition due à "l'effet piège" des produits analysés.

Le pourcentage d'inhibition "A" est donné par la relation :

25

$$A = \frac{(P1 - P0) - P2}{P1 - P0} \times 100$$

Pour chaque analyse, trois essais ont été effectués ; ces essais ont donné lieu à des moyennes. L'ensemble de ces moyennes sont rassemblées dans le tableau II ci-dessous.

5

TABLEAU II

Produit testé N° exemple	OPC PR non réticulé	Ex. 1	Ex. 3	Ex. 5	Ex. 6	Ex. 9	Ex. 11	Ex. 15
Activité anti- radicalaire A %	91 ± 2	81±4	51±1	71±2	83±1	79±3	64±5	78±2

OPC PR = Oligomère ProCyanidolique de Pépins de Raisin.

10 Remarque :

Toutes les microcapsules testées avaient été préalablement lyophilisées, à l'exception des microcapsules de l'exemple 15 qui avaient été séparées par centrifugation d'une suspension fraîchement obtenue.

15 Ces résultats démontrent que les polyphénols végétaux réticulés selon l'invention, sous forme de microcapsules, ont, de manière surprenante, conservé une activité anti-radicalaire sensiblement de même importance.

Ainsi, les microcapsules selon l'invention ont conservé l'activité des polyphénols végétaux dont elles sont issues et peuvent être utilisées avantageusement dans ce but dans différentes compositions, notamment cosmétiques ou pharmaceutiques, tout en présentant une très grande stabilité.

20 Diverses formulations de compositions cosmétiques ou pharmaceutiques, notamment dermatologiques, sont données ci-après.

Exemple 38

25 Composition de base pour composition cosmétique ou pharmaceutique.

On disperse des microcapsules lyophilisées d'OPC réticulés telles qu'obtenues selon l'un quelconque des exemples précédents 1 à 8, 15 ou 16, à la concentration de 0,1 % dans un excipient gras, par exemple un excipient gras

disponible dans le commerce de dénomination commerciale Cold Cream naturel des Laboratoires Roche Posay. On constate que les microcapsules se répartissent très facilement dans l'excipient et donnent une préparation d'aspect homogène présentant une très légère teinte rosée.

5                    Cette composition est particulièrement stable.

### Exemple 39

#### Composition sous forme d'un gel protecteur.

10                    Cette composition présente les ingrédients suivants en pourcentage en poids :

	% en poids
Eau.....	64,30
Conservateur imidazolin urée.....	0,20
Carbomer 940®.....	0,50
15   Hydroxyde de sodium à 10 %.....	1,90
Alcool 96°.....	20,00
Suspension de microcapsules d'oligomères procyanidoliques de pépins de raisin à 0,7 %, selon l'exemple 15.....	<u>14,30</u>
	100,00

#### 20                    Mode opératoire de préparation :

On prépare d'abord le gel de Carbomer 940 de façon classique, à savoir que l'on dissout le conservateur dans l'eau, puis on disperse le carbomer 940. Ensuite, on neutralise par la solution de soude sous agitation. On ajoute l'alcool, et enfin, on ajoute sous agitation la suspension de microcapsules en obtenant ainsi une composition sous forme d'un gel.

25                    Ce gel s'applique sur la peau, par exemple du visage ou des mains, et permet ensuite l'application d'une crème et/ou d'un maquillage.

Exemple 40Composition cosmétique sous forme de crème de jour

Cette composition se compose de trois phases A, B, C, respectivement suivantes :

5 Phase A :

		% en poids
	Steareth 2	0,8
	Steareth 21	2,2
	Cétyl palmitate	1,5
10	Alcool stéarylique	1,8
	Glycéryl monostéarate	1,5
	Caprylic capric triglycéride	4,6
	Acide stéarique	2,6
	Perhydrosqualène	11,0
15	Parabens	0,5

Phase B

	Eau	57,20
	Méthyl paraben	0,15
20	Carbomer 940	0,20

Phase C

	Eau	1,26
25	Sodium hydroxyde	0,14

Phase D

Suspension de microcapsules d'oligomères procyanidoliques  
de pépins de raisin (OPC PR) à 0,7 % selon l'exemple 15 14,3

30 Phase E

	Parfum	<u>0,25</u>
		100,00

Mode opératoire de préparation :

On prépare la phase grasse (phase A) de manière classique en mélangeant les ingrédients indiqués ci-dessus, puis on chauffe à 85°C.

On prépare ensuite la phase aqueuse (phase B) de la manière suivante :

- 5                   - on chauffe l'eau à 85°C, dans laquelle on dissout le conservateur,  
                  - ensuite, on disperse le carbomer 940, et on maintient la température à 85°C.

10                Dans un mélangeur agitateur de type YSTRAL<sup>®</sup>, on verse lentement la phase aqueuse B sur la phase grasse A. On poursuit l'agitation tout en laissant refroidir le mélange. Lorsque la température atteint 70°C, on neutralise avec la phase C (solution de soude). Puis, à 40°C, on ajoute la suspension de microcapsules d'OPC PR (phase D). On poursuit toujours l'agitation tout en laissant refroidir, et on parfume à 35°C (phase E). On agite encore, jusqu'à ce que l'émulsion huile dans eau obtenue atteigne la température ambiante.

15                La stabilité de cette crème a été déterminée. Conservée à l'étuve à 40°C, elle n'a subi aucune modification de couleur après un mois, contrairement à un échantillon témoin de crème préparée à partir des phases A, B, C, E et contenant des OPC non réticulés, placé dans les mêmes conditions.

20                On obtient ainsi une crème de jour qui peut être appliquée régulièrement sur la peau, par exemple du visage ou des mains.

### REVENDICATIONS

1. Microcapsules, caractérisées en ce qu'elles comprennent une paroi formée d'un ou plusieurs polyphénols végétaux réticulés, en particulier au moyen d'une réticulation interfaciale entre le ou les polyphénols végétaux et un agent réticulant, de préférence un halogénure de diacide, en particulier un chlorure de diacide.

2. Microcapsules selon la revendication 1, caractérisées en ce qu'elles comprennent une protéine ou un polysaccharide, ou un polyalkylèneglycol ou un mélange quelconque de ces substances.

3. Microcapsules selon la revendication 2, caractérisées en ce que leur paroi comprend une protéine et/ou un polysaccharide et/ou un polyalkylèneglycol co-réticulé avec le ou les polyphénols végétaux précités.

4. Microcapsules selon l'une des revendications 2 ou 3, caractérisées en ce que la protéine précitée est douée d'une activité biologique spécifique, telle qu'une activité enzymatique, comme par exemple la catalase, la superoxyde dismutase, ou la glutathion peroxydase, cette activité pouvant s'ajouter à l'activité propre du ou des polyphénols végétaux.

5. Microcapsules selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisées en ce que les polyphénols végétaux précités sont des polyphénols végétaux monocycliques ou polycycliques, tels que les flavonoïdes, les isoflavonoïdes, les néoflavonoïdes, les tanins galliques et les tanins ellagiques, le catéchol et ses dérivés tels que la DL-3,4-dihydroxyphénylalanine ou DL-DOPA, ou les catécholamines telles que la 3-hydroxytyramine ou dopamine, ou le phloroglucinol, ou les acides phénols tels que l'acide caféique, l'acide dihydrocaféique, l'acide protocatéchique, l'acide chlorogénique, l'acide isochlorogénique, l'acide gentisique, l'acide homogentisique, l'acide gallique, l'acide hexahydroxydiphénique, l'acide ellagique, l'acide rosmarinique, l'acide lithospermique, ou les dérivés des acides phénols, en particulier leurs esters ou leurs hétérosides, ou la curcumine, ou les coumarines polyhydroxylées, ou les lignanes ou les néolignanes polyhydroxylés, ou un mélange contenant un ou plusieurs polyphénols végétaux ou leurs dérivés, comme la silymarine, tous les polyphénols précités pouvant être utilisés sous forme de préparations obtenues à partir



de plantes ou de parties de plantes, telles que des extraits, des teintures, des jus de fruits, des vins.

6. Microcapsules selon l'une des revendications précédentes, caractérisées en ce que les flavonoïdes précités peuvent être choisis parmi le groupe consistant d'une flavone, telle que l'apigénol, le lutéolol, un flavonol comme la quercétine, le kaempferol, ou un hétéroside de flavone ou de flavonol, comme la rutine et ses dérivés, une flavanone comme la flavanone, la naringénine, l'hespérétine, ou un hétéroside de flavanone comme la naringine, l'hespéridine, la diosmine, ou un dérivé de flavanone comme le diosmoside, ou un biflavonoïde, ou un dimère de flavone ou de flavonone comme l'amentoflavone, ou une chalcone telle que l'isoliquirtigénine ou l'hespéridine méthylchalcone, un flavanonol tel que le taxifoliol ou une substance dérivée de taxifoliol telle que la silybine, la silychristine, la silydianine, un flavan-3-ol tel que la (+) catéchine, la (-) épicatechine, un polymère formé d'unités de structure de base flavan-3-ol, généralement désigné sous le nom de "proanthocyanidine" ou sous l'expression "tanin condensé", en particulier un oligomère comprenant de 2 à 8 de ces unités, appelé généralement "oligomère procyanidolique" (OPC), un anthocyanoside comme le malvoside ou un mélange contenant un ou plusieurs flavonoïdes, en particulier sous la forme d'extraits de fruits ou d'extraits de plantes ou de parties de plantes.

7. Microcapsules selon la revendication 6, caractérisées en ce que les mélanges contenant des flavonoïdes peuvent comprendre des mélanges de citroflavonoïdes extraits de divers Citrus (Rutacées), un mélange de flavonoïdes extrait de Silybum marianum (Composées) ou la silymarine, les extraits de Ginkgo biloba (Ginkgoacées), les extraits riches en anthocyanosides de myrtille, de fruits de cassis, de peaux de raisin, de feuille de vigne rouge, les jus de fruits tels que les jus de raisin, de cassis, tels quels ou concentrés ou desséchés notamment par nébulisation ou lyophilisation, les vins rouges, tels quels ou concentrés ou desséchés, ou leurs divers mélanges.

8. Microcapsules selon l'une des revendications 2 à 7, caractérisées en ce que la protéine précitée peut être choisie parmi le groupe consistant des albumines comme la sérumalbumine, l'ovalbumine, l'alpha-lactalbumine, les globulines, le fibrinogène, la caséine, les protéines végétales telles que les protéines du soja, les

glutélines qui de préférence auront été dégradées, les scléroprotéines solubilisées, le collagène, l'atélocollagène, la gélatine, les hydrolysats de gélatine, les peptones, l'hémoglobine, les enzymes telles que la catalase, la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, des mélanges contenant des protéines hydrophiles, tels que le  
5 lait entier ou écrémé totalement ou partiellement, le lait en poudre, le lait condensé, les protéines du lactosérum, la farine de soja, les mélanges d'atélocollagène et de glycosaminoglycanes.

9. Microcapsules selon l'une des revendications 2 à 8, caractérisées en ce que le polysaccharide précité peut être choisi parmi le groupe consistant des dextrans,  
10 de l'acide alginique et ses sels hydrosolubles, en particulier l'alginate de sodium, les gommes végétales, les carraghénanes, les pectines, les dérivés solubles d'amidon, les dérivés solubles de cellulose, les glycosaminoglycanes.

10. Microcapsules selon l'une des revendications 2 à 9, caractérisées en ce que le polyalkylèneglycol précité peut être choisi parmi le groupe consistant des  
15 polyéthylèneglycols et des polypropylèneglycols.

11. Microcapsules selon l'une des revendications précédentes, caractérisées en ce qu'elles sont préparées par réticulation interfaciale à partir d'une émulsion dont la phase aqueuse contient de 1 % à 40 %, de préférence entre 1 et 20 % en poids de polyphénols végétaux par rapport au poids total de la phase aqueuse ; lorsque une  
20 protéine et/ou un polysaccharide et/ou un polyalkylèneglycol précité est présent, la concentration totale dans la phase aqueuse de cette ou de ces substance(s) est comprise avantageusement entre 0,1 et 30 % en poids, de préférence entre 1 et 10 % en poids, par rapport au poids total de la phase aqueuse.

12. Microcapsules selon l'une des revendications précédentes, caractérisées en ce qu'elles contiennent une ou plusieurs substances actives hydrosolubles,  
25 liposolubles ou insolubles, à l'état de solution, de suspension ou d'émulsion, en particulier une substance minérale réfléchissante des radiations solaires, de préférence insoluble, une huile végétale ou une solution huileuse contenant une substance active liposoluble tel qu'un filtre solaire liposoluble.

13. Microcapsules selon la revendication 12, caractérisées en ce que la  
30 substance active précitée incorporée dans les microcapsules est choisie parmi le groupe consistant en une substance minérale réfléchissante des radiations solaires, telle

qu'un oxyde de fer, l'oxyde de titane, l'oxyde de zinc, le talc, le kaolin, une huile végétale telle qu'une huile de germes de céréales ou une huile de foie de poisson désodorisée, ou une solution huileuse d'une substance liposoluble telle que la vitamine A, la vitamine D2, la vitamine E ou tocophérol, un acide gras essentiel tel  
5 que l'acide linoléique, l'acide linolénique, l'acide arachidonique, une céramide, un dérivé liposoluble d'acide ascorbique tel que le palmitate d'ascorbyle, ou un filtre solaire liposoluble tel qu'un ester cinnamique, un ester paraaminobenzoïque, un ester salicylique, une benzophénone, le benzylidène camphre et ses dérivés, un dérivé du dibenzoylméthane, un benzimidazole, ou une substance photoactive telle que le  
10 bergaptène ou tout autre dérivé du psoralène, ou encore un mélange contenant plusieurs substances actives.

14. Microcapsules selon l'une des revendications précédentes, caracté-  
risées en ce qu'elles présentent un diamètre compris entre 0,1  $\mu\text{m}$  (micromètre) et  
3 mm.

15 15. Procédé de fabrication de microcapsules, caractérisé en ce qu'on réalise une réticulation interfaciale d'une émulsion de type eau-dans-l'huile, comprenant les étapes essentielles suivantes :

20 a) on prépare une phase aqueuse contenant le polyphénol végétal ou le mélange de polyphénols végétaux à réticuler,

b) on prépare une phase hydrophobe, contenant éventuellement un ou plusieurs agents tensio-actifs,

25 c) on émulsionne ladite phase aqueuse dans la phase hydrophobe précitée, de sorte que la phase hydrophobe constitue la phase continue dans laquelle la phase aqueuse forme la phase dispersée,

30 d) on ajoute à l'émulsion ainsi obtenue un agent réticulant dissous dans un liquide miscible à la phase hydrophobe, sous agitation, pour réaliser une réticulation interfaciale de l'agent réticulant et du ou des polyphénols végétaux contenus dans la phase aqueuse,

e) on maintient l'agitation pendant un temps de réaction convenable pour obtenir une réticulation suffisante conduisant à la formation de microcapsules dont la paroi comprend le ou les polyphénols végétaux réticulés par l'agent réticulant,

- 5 f) on recueille les microcapsules ainsi formées, par tout moyen approprié.

16. Procédé de fabrication de microcapsules, caractérisé en ce qu'on réalise une réticulation interfaciale d'une émulsion de type huile-dans-eau comprenant les étapes essentielles suivantes :

- 10 a) on prépare une phase hydrophobe dans laquelle on dissout l'agent réticulant,

b) on prépare une phase aqueuse contenant le polyphénol végétal ou le mélange de polyphénols végétaux à réticuler, et éventuellement un ou plusieurs agents tensio-actifs,

15

c) on émulsionne la phase hydrophobe dans la phase aqueuse précitée de sorte que la phase aqueuse constitue la phase continue dans laquelle la phase hydrophobe forme la phase dispersée,

- 20 d) on maintient l'ensemble sous agitation pendant un temps de réaction convenable pour obtenir une réticulation suffisante conduisant à la formation de microcapsules dont la paroi comprend le ou les polyphénols végétaux réticulés par l'agent réticulant,

e) on recueille les microcapsules ainsi formées, par tout moyen approprié.

25

17. Procédé selon la revendication 15 ou 16, caractérisé en ce qu'on ajoute à la phase aqueuse, lors de sa préparation, une protéine ou un polysaccharide, ou un polyalkylèneglycol ou un mélange quelconque de ces substances.

- 30 18. Procédé selon l'une des revendications 15 à 17, caractérisé en ce qu'on réalise des lavages des microcapsules formées, afin d'éliminer l'agent réticulant en excès ainsi que le ou les polyphénols végétaux n'ayant pas réagi ou non encapsulés dans les microcapsules.

19. Procédé selon l'une des revendications 15 à 18, caractérisé en ce que les microcapsules sont lyophilisées.

20. Procédé selon l'une des revendications 15 à 19, caractérisé en ce que l'agent réticulant comprend un halogénure de diacide, en particulier un chlorure de diacide, de préférence choisi parmi le groupe consistant d'un chlorure de diacide aliphatique ou aromatique, tel que le chlorure de sébacoyl, le chlorure de succinyl, le chlorure d'adipoyl, le chlorure de téréphtaloyl, le chlorure de glutaryl.

21. Procédé selon l'une des revendications 15 à 20, caractérisé en ce que la concentration en halogénure de diacide est comprise entre 0,2 % et 10 % en poids du poids total du milieu réactionnel.

22. Procédé selon l'une des revendications 15 à 21, caractérisé en ce que le pH de la réaction est compris entre 8 et 14, et encore mieux entre 9 et 12 et peut être assuré par une solution tampon ou une solution d'un agent alcalin tel que la soude ou la potasse.

23. Procédé selon l'une des revendications 15 à 22, caractérisé en ce que la phase hydrophobe non miscible à la phase aqueuse précitée est réalisée à partir de substances liquides hydrophobes choisies parmi le groupe consistant des hydrocarbures halogénés ou non, tels que le cyclohexane, le chloroforme ou le dichlorométhane, des esters d'acides gras, tels que le myristate d'isopropyle ou l'oléate d'éthyle, des mélanges d'esters d'acides gras tels que par exemple le produit Dragoxat<sup>®</sup>, des huiles végétales, telles que l'huile d'olive, l'huile d'amande douce ou l'huile d'arachide, des huiles minérales, telles qu'une huile de paraffine, et tout mélange de ces substances liquides hydrophobes.

24. Procédé selon l'une des revendications 15 à 23, caractérisé en ce qu'on incorpore à la phase devant être dispersée, constituant la phase liquide à encapsuler, une ou plusieurs substances actives, à l'état de solution, de suspension ou d'émulsion, en particulier une substance minérale réfléchissante des radiations solaires, de préférence insoluble, une huile ou une solution huileuse de substance liposoluble, telle qu'un filtre solaire liposoluble.

25. Composition, en particulier composition cosmétique ou pharmaceutique, notamment dermatologique, composition diététique, ou composition alimentaire, caractérisée en ce qu'elle comprend des microcapsules à paroi de poly-

phénols végétaux réticulés, telles que définies à l'une quelconque des revendications 1 à 14, ou obtenues par la mise en oeuvre du procédé selon l'une quelconque des revendications 15 à 24.

26. Composition selon la revendication 25, caractérisée en ce que la  
5 concentration en microcapsules à paroi de polyphénols végétaux réticulés est comprise entre 0,01 et 10 % en poids du poids total de la composition finale, encore mieux entre 0,1 et 5 % en poids de la composition finale.

27. Composition selon la revendication 25 ou 26, caractérisée en ce que  
10 les microcapsules à paroi de polyphénols végétaux réticulés se présentent sous forme de microcapsules brutes de fabrication dites fraîches.

28. Composition selon la revendication 25 ou 26, caractérisée en ce que  
les microcapsules à paroi de polyphénols végétaux réticulés se présentent sous forme desséchée, notamment par lyophilisation.

29. Composition selon l'une des revendications 25 à 28, caractérisée en ce  
15 qu'elle est destinée à prévenir le vieillissement cutané, notamment le vieillissement actinique.

30. Méthode de traitement cosmétique d'un être humain pour la  
prévention du vieillissement cutané, notamment du vieillissement actinique dû  
généralement aux radicaux libres, caractérisée en ce qu'on applique une quantité  
20 efficace de microcapsules à paroi de polyphénols végétaux réticulés, telles que définies à l'une quelconque des revendications 1 à 14, éventuellement incluses dans un excipient, véhicule ou support cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptable, sur les zones de la peau ou des cheveux sensibles à l'action des radicaux libres, notamment les radicaux libres résultant d'une exposition actinique.

25 31. Méthode de traitement cosmétique selon la revendication 30, caractérisée en ce que la concentration en microcapsules est habituellement comprise entre 0,01 et 10 % en poids, et de préférence entre 0,1 et 5 % en poids de la composition contenant les microcapsules.

30 32. Procédé de préparation d'une composition incorporant un ou plusieurs polyphénols végétaux, caractérisé en ce qu'en vue de prévenir toute altération, notamment toute modification de coloration de la composition au cours du temps, tout en conservant l'activité des polyphénols végétaux, notamment l'activité

biologique, ces derniers sont incorporés dans ladite composition sous forme de microcapsules telles que définies selon l'une quelconque des revendications 1 à 14 ou obtenues par la mise en oeuvre du procédé selon l'une quelconque des revendications 15 à 24.

5                   33. Procédé selon la revendication 32, caractérisé en ce que la composition est choisie parmi le groupe consistant d'une composition cosmétique ou pharmaceutique, notamment dermatologique, d'une composition diététique, ou d'une composition alimentaire.

10                   34. Procédé selon la revendication 32 ou 33, caractérisé en ce que l'activité conservée par les polyphénols végétaux, en particulier par les flavonoïdes, est une activité anti-radicalaire et/ou anti-oxydante.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR 95/00116

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 6 B01J13/16 A61K9/50 A23L1/22

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 6 B01J A61K A23L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CRITICAL REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND NUTRITION, vol. 28, no. 4, 1889 pages 273-314, F. J. FRANCIS 'Food Colorants: Anthocyanins' cited in the application ---	
A	BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY, vol. 44, no. 1, 7 July 1992 pages 180-183, 'Picroliv, picroside-I and kutkoside from Picrorhiza kurroa are scavengers of superoxide anions' cited in the application --- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☐ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 May 1995

Date of mailing of the international search report

24.05.95

Name and mailing address of the ISA  
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Meertens, J



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 95/00116

C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>JOURNAL OF POLYMER SCIENCE,  vol. XL, 1959  pages 399-406,  W. M. EARECKSON 'Interfacial  Polycondensation. X. Polyphenyl Esters'  cited in the application  -----</p>	

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dossier International No  
PCT/FR 95/00116

**A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE**

CIB 6 B01J13/16 A61K9/50 A23L1/22

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

**B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE**

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 B01J A61K A23L

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

**C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS**

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	CRITICAL REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND NUTRITION, vol. 28, no. 4, 1889 pages 273-314, F. J. FRANCIS 'Food Colorants: Anthocyanins' cité dans la demande ---	
A	BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY, vol. 44, no. 1, 7 Juillet 1992 pages 180-183, 'Picroliv, picroside-I and kutkoside from Picrorhiza kurrooa are scavengers of superoxide anions' cité dans la demande --- -/-	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☐ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "I" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

12 Mai 1995

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

24.05.95

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Meertens, J

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Re. de Internationale No

PCT/FR 95/00116

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>JOURNAL OF POLYMER SCIENCE, vol. XL, 1959 pages 399-406, W. M. EARECKSON 'Interfacial Polycondensation. X. Polyphenyl Esters' cité dans la demande -----</p>	

This page Blank (uspto)